

B

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
  - To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
  - To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

|  |                                  |
|--|----------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Select All | Format                           |
| <input type="checkbox"/> Clear Selections      | Display Selected                 |
| <input type="checkbox"/> Print/Save Selected   | Free                             |
| <input type="checkbox"/> Send Results          | <input type="button" value="▼"/> |

1.  5/5/1

008169185

WPI Acc No: 1990-056186/199008

XRAM Acc No: C90-024596

Carcinostatics contg. derivs. of 1,2-diester of glycerol -  
where 2-ester is eicosapentaenoyl

Patent Assignee: NIPPON OILS & FATS CO LTD (NIOF ); RIKAGAKU KENKYUSHO  
(RIKA )

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

|            |      |          |             |      |          |          |
|------------|------|----------|-------------|------|----------|----------|
| Patent No  | Kind | Date     | Applicat No | Kind | Date     | Week     |
| JP 2011516 | A    | 19900116 | JP 88161548 | A    | 19880629 | 199008 B |
| JP 2688829 | B2   | 19971210 | JP 88161548 | A    | 19880629 | 199803   |

Priority Applications (No Type Date): JP 88161548 A 19880629

Patent Details:

|            |      |        |             |                                  |
|------------|------|--------|-------------|----------------------------------|
| Patent No  | Kind | Lan Pg | Main IPC    | Filing Notes                     |
| JP 2688829 | B2   | 6      | A61K-031/23 | Previous Publ. patent JP 2011516 |

Abstract (Basic): JP 2011516 A

New Carcinostatics contain at least one cpd. of formula  
CH20COR1-CHOCOR2-CH2R3 (1) (where R1 = 1-29C of satd. alkyl or 1-29C of unsatd. alkyl having 1-10 double bond; R2 = eicosapentaenoyl; R3 = phosphonylcholine or OH).

USE/ADVANTAGE - Carcinostatics which contain phosphatidylcholine having 20:5 fatty acid and/or diglyceride having 20:5 fatty acid as effective component. An example of 1 is 1-oleoyl 2-eicosapentaenoyl 3-glycerylphosphatidyl choline. It may be prep'd. from 1-oleoyl-3-glycerylphosphonylcholine eicosapentaenoic acid anhydride

Title Terms: CARCINOSTATIC; CONTAIN; DERIVATIVE; DI; ESTER; GLYCEROL; ESTER ; EICOSA

Derwent Class: B05

International Patent Class (Main): A61K-031/23

International Patent Class (Additional): A61K-031/685; C07C-069/58;  
C07C-069/587; C07F-009/09; C07F-009/10

File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352); (c) 2002 Thomson Derwent. All rights reserved.

|  |                                  |
|--|----------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Select All | Format                           |
| <input type="checkbox"/> Clear Selections      | Display Selected                 |
| <input type="checkbox"/> Print/Save Selected   | Free                             |
| <input type="checkbox"/> Send Results          | <input type="button" value="▼"/> |

© 2002 The Dialog Corporation plc

⑯ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A) 平2-11516

⑬ Int. Cl.

A 61 K 31/23  
31/685  
// C 07 C 69/587  
C 07 F 9/09

識別記号

ADU

府内整理番号

7330-4C  
7431-4C

⑭ 公開 平成2年(1990)1月16日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全7頁)

⑮ 発明の名称 制癌剤

⑯ 特願 昭63-161548

⑰ 出願 昭63(1988)6月29日

特許法第30条第1項適用 昭和63年3月15日、社団法人日本農芸化学会発行の「日本農芸化学会誌第62巻第3号」に発表

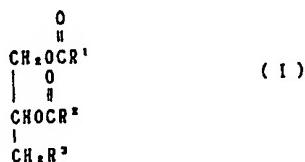
|                |                    |
|----------------|--------------------|
| ⑱ 発明者 桜井 成     | 東京都杉並区南荻窪1丁目33番12号 |
| ⑲ 発明者 旭 健一     | 埼玉県和光市諏訪原団地1-4-108 |
| ⑳ 発明者 高橋 信孝    | 東京都杉並区荻窪4丁目27番2号   |
| ㉑ 発明者 日比野 英彦   | 東京都練馬区旭丘2丁目22番1号   |
| ㉒ 発明者 福田 信雄    | 茨城県つくば市梅園2-24-5    |
| ㉓ 出願人 理化学研究所   | 埼玉県和光市広沢2番1号       |
| ㉔ 出願人 日本油脂株式会社 | 東京都千代田区有楽町1丁目10番1号 |
| ㉕ 代理人 弁理士 中村 稔 | 外4名                |

明　　細　　書

1. 発明の名称 制癌剤

2. 特許請求の範囲

一般式 (I) で示される化合物の少なくとも1種を有効成分とする制癌剤。



(式中、R'は炭素数1~29の飽和アルキル基又は二重結合を1~10個有する炭素数1~29の不飽和アルキル基であり、R''はエイコサペンタエノイル基であり、R^3はフォスホリルコリン又は水酸基である。)

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、20:5脂肪酸を有するフォスファチジルコリン及び/又は20:5脂肪酸を有するジグリセリドを有効成分とする制癌剤に関する。

(従来の技術)

従来、癌化学療法剤として、アルキル化剤(ナイトロジエンマスターード類、エチレンイミン類、スルホン酸エステル類)、代謝拮抗物質(葉酸拮抗剤、ブリン拮抗剤、ビリミジン拮抗剤)、植物性核分裂毒(コルセミド、ビンプラスチン等)、抗生素質(ザルコマイシン、カルチノフィリン、マイトマイシン等)、ホルモン類(副腎ステロイド、男性ホルモン、女性ホルモン)及びポルフィリン錯塩(マーフィリン、COPP)等が用いられている。しかしながら、その殆んどは、細胞毒性型の物質であり、重大な副作用を呈するため、低毒性で優れた制癌活性を有する制癌剤の開発が強く望まれている。

本発明者らは、そのような趣旨に鑑み、低毒性

で制癌性を有する物質を探索した結果、先に、ニジマス胚より、奇形腫細胞や赤芽球性白血病細胞に対し強力な分化誘導活性を示す22:6脂肪酸を有するフォスファチジルコリン及びジグリセリドを単離し、その構造解析を行い、該物質が優れた制癌剤として用いうることを見出した（特開昭59-46226号公報参照）。

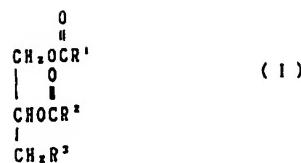
その後、更に研究を進め、該物質の各種誘導体の化学合成あるいは半合成を行って、その制癌活性（分化誘導活性）を調べたところ、20:5脂肪酸を有するフォスファチジルコリン及びジグリセリドが、優れた制癌活性を示すことを見出し、本発明を完成した。

#### 【発明の目的】

本発明の目的は、20:5脂肪酸を有するフォスファチジルコリン及び／又はジグリセリドを有効成分とする制癌剤を提供することにある。

#### 【発明の構成】

本発明の有効成分は一般式（I）で示される化合物である。



（式中、R'は炭素数1～29の飽和アルキル基又は二重結合を1～10個有する炭素数1～29の不飽和アルキル基であり、R\*はエイコサペンタエノイル基であり、R<sup>3</sup>はフォスホリルコリン又は水酸基である。）

一般式（I）の化合物としては、1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイルジグリセリド

（以下OE-DGということがある）、1-バルミトイール-2-エイコサペンタエノイルジグリセリド（以下PE-DGということがある）、1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン（以下OE-PCということがある）、1-バルミトイール-2-エイコサベントエノイル-3-ホスファチジルコリン（以下PE-PCということがある）を例示できる。

一般式（I）の化合物は、化学的に合成することも、生体から採取することもできる。以下に合成例を示す。

#### 合成例1

脱水したクロロホルム50mL中に、1-オレオイル-3-グリセリルホスホリルコリン77.6mg（1.49ミリモル）、エイコサペンタエン酸無水物96.0mg（1.64ミリモル）、及びN,N-ジメチル-4-アミノピリジン20.3mg（1.66ミリモル）を加え、室温で搅拌しながら24時間反応させた。

反応終了後、反応混合物中のN,N-ジメチル-4-アミノピリジンを除去するため、酸性陽イオン交換樹脂（ローム・アンド・ハース社製、登録商標アンバーライト200C）25mL及び塩基性陰イオン交換樹脂（ローム・アンド・ハース社製、登録商標アンバーライトIRC-50及びアンバーライトIRA-93の等量混合物）50mLを3.0φ×50cmのガラスカラムに充填した中を、クロロホルムを用いて洗した。

この処理溶液をシリカゲル薄層クロマトグラフィー（展開溶媒はクロロホルム：メタノール：水=65:25:4、発色はヨウ素）で分析した結果、RF値0.1～0.3（N,N-ジメチル-4-アミノピリジンと酸無水物の複合体を示す）の紫色の発色が完全に消失した。

クロロホルムを減圧留去し、残留物を20mLのシリカゲルを充填した1.5φ×50cmのガラスカラムを用いて、クロロホルム500mLを用いて溶出したものをフラクション1(F<sub>1</sub>)、クロロホルム：メタノール=10:1、500mLを用いて溶出したものをフラクション2(F<sub>2</sub>)、クロロホルム：メタノール=5:1、1500mLを用いて溶出したものをフラクション3(F<sub>3</sub>)とした。

F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>を、シリカゲル薄層クロマトグラフィー（展開溶媒はクロロホルム：メタノール：水=65:25:4、発色はヨウ素）で分析した結果、目的物である1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンはF<sub>3</sub>

中に含まれていた。

$P_2$ の溶媒を減圧留去し、1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-グリセロホスファチジルコリン $7.0\text{ mg}$ を得た。(收率 5.8%)

得られた1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンに対して、FAB-MSの直接導入法で分析した結果、1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンの分子イオン $806$  ( $(M + H)^+$ ) が明瞭に認められた。また、未反応原料である1-オレオイル-3-グリセリルホスホリルコリンは認められなかった。

#### 合成例2

合成例1で得られた1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン $7.0\text{ mg}$ を $8.0\text{ mL}$ のメタノールに溶解し、ホスホリバーゼC (シグマ社製、EC 3.1.4.3;クロストリジウム・ペルフリングエンス (*Clostridium perfringens*) 起源) を $4.0\text{ mL}$ 、 $0.2\text{ M}$ トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) を $0.6\text{ mL}$ 、 $0.05\text{ M}$

反応後の成分のRF値は、反応前の0.3から0.8に変化し、ドラーゲンドルフ試薬とディットマー・レスター試薬に対する発色が陽性から陰性に変化した。さらに、薄層クロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム/アセトン/メタノール系 ( $90/9/1$ , vol/vol/vol)) で標準体として未蒸留モノグリセリドと共に反応後の成分を測定した。

反応後の成分はRF値が0.65で、標準体の $S_{n-1}$ 位、2位ジアシルグリセロール (一般名 $\beta$ -ジアシルグリセロール) の位置に相当していた。本成分は、FAB-MSによって分子量 $640$  ( $(M + Na)^+$ , 663) が認められた。

#### 合成例3

擣碎したニジマスの受精卵 $300\text{ g}$ をクロロホルム/メタノール ( $2/1$ , vol/vol) 混液 $1.2\text{ L}$ に入れ、ホモミキサーで30分、高速で剪断抽出した。濾別された濁ケーキを上記溶媒で剪断抽出した。濾別された濁ケーキを上記溶媒 $0.4\text{ L}$ で抽出する操作を2回行ない、全濾液にクロロホルム $0.6\text{ L}$ と蒸留水 $0.6\text{ L}$ を加え、クロロホルム層を集めて脱溶媒して、 $20.2\text{ g}$ の全脂質

M塩化カルシウムを $0.35\text{ mL}$ 、エチルエーテルを $0.4\text{ mL}$ 加えた。反応混合物をスクリューキャップ付き $2\text{ mL}$ の試験管中にテフロンスターーラーバーと共に加えて、 $35^\circ\text{C}$ で1時間激しく攪拌しながらインキュベーションした。

反応混合物にエチルエーテル $1.2\text{ mL}$ を加えてから分液漏斗に移し、抽出後、窒素気流下で濃縮した。エチルエーテルで抽出された反応混合物中の未反応のホスファチジルコリンを除去するため氷冷アセトンを $0.1\text{ mL}$ 加え、ホスファチジルコリンを沈殿させた。エチルエーテル層を硫酸ナトリウムで脱水し、さらに、窒素気流下で脱溶媒して目的の1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイルグリセロールが $5.9.8\text{ mg}$ 得られた。

得られた1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイルグリセロールは油状であり、クロロホルム、ヘキサンに可溶で水に不溶であった。

薄層クロマトグラフィー (展開溶媒: クロロホルム/メタノール/水系 ( $65/25/4$ , vol/vol/vol)) で反応前後の成分を測定した。

を得た。

得られた全脂質を氷冷アセトン $250\text{ mL}$ に入れ、攪拌下10分間抽出し沈殿を回収した。この操作を4回繰り返してリン脂質分画 $10.4\text{ g}$ を得た。

リン脂質全量を4等分してシリカゲルカラムクロマトグラフィー (富士ゲル CG-3、水戸化学製、 $5\phi \times 40\text{ cm}$ カラムに $700\text{ cc}$ ) に付した後クロロホルム/メタノール ( $4/1$ , vol/vol) 混液の溶離液系でホスファチジルコリン以前に溶出するリン脂質を除去し、さらにクロロホルム/メタノール ( $3/2$ , vol/vol) 混液の溶離液系で溶出し TLC (展開溶媒: クロロホルム/メタノール/水,  $65/25/4$ , vol/vol/vol) でRF値 $0.20 \sim 0.30$  (ホスファチジルコリン) に単一スポットが認められる分画を集めた。同一操作を4回繰り返してホスファチジルコリン $2.7\text{ g}$ を得た。

次いで、得られたホスファチジルコリンを $1\%$  wt/volのメタノール溶液とし、東ソー製の全自动大量分取液体クロマトグラフィー HLC-837

にODS充填カラム( $\phi$ 2インチ×60cm)を装着して、溶離液としてメタノールを40ml/min流して、1バッチ当たり5mlの試料溶液を注入した。溶出時間100分近辺に巨大なメインピークが流出し、その前に4本、後に3本のマイナーピークが検出された。各ピークに相当する分画からは1バッチ当たり1~1.5mlが分取された。各分画中のホスファチジルコリンの脂肪酸組成を測定した結果、メインピークが流出する直前のピークがエイコサペンタエン酸を主体とする成分であることがわかった。本分画は1バッチ当たり5mlが回収され、FAB-MSによって分子量780 ( $[(M+H)^{+}]$ )、分子量806 ( $[(M+H)^{+}]$ )が認められ、脂肪酸組成はエイコサペンタエン酸40.6%、オレイン酸17.3%、パルミチン酸23.9%であり、ホスホリバーゼA<sub>2</sub>処理によるSn-2位のエイコサペンタエン酸量は78.6%であった。

原料のメタノール溶液の一部100mlを用い、10バッチを行ない該化合物(1-バルミトイ

-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン及び1-オレオイル-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン)43mgを単離した。

#### 合成例4

脱水したクロロホルム50ml中に、1-バルミトイ-3-グリセリルホスホリルコリン1000mg(2.02ミリモル)、エイコサペンタエン酸無水物2300mg(3.92ミリモル)、及びN,N-ジメチル-4-アミノビリジン500mg(4.10ミリモル)を加え、室温で搅拌しながら24時間反応させた。

反応終了後、反応混合物中のN,N-ジメチル-4-アミノビリジンを除去するため、酸性陽イオン交換樹脂(ローム・アンド・ハース社製、登録商標アンバーライト200C)30ml及び塩基性陰イオン交換樹脂(ローム・アンド・ハース社製、登録商標アンバーライトIRC-50及びアンバーライトIRA-93の等量混合物)60mlを3.0φ×50cmのガラスカラムに充填した

中を、クロロホルムを用いて洗した。

この処理溶液をシリカゲル薄層クロマトグラフ(展開溶媒はクロロホルム:メタノール:水=65:25:4、発色はヨウ素)で分析した結果、Rf値0.1~0.3(N,N-ジメチル-4-アミノビリジンと酸無水物の複合体を示す)の紫色の発色が完全に消失した。

クロロホルムを減圧留去し、残留物を30mlのシリカゲルを充填した1.5φ×50cmのガラスカラムを用いて、クロロホルム800mlを用いて溶出したものをフラクション1(F<sub>1</sub>)、クロロホルム:メタノール=10:1 800mlを用いて溶出したものをフラクション2(F<sub>2</sub>)、クロロホルム:メタノール=5:1 2400mlを用いて溶出したものをフラクション3(F<sub>3</sub>)とした。

F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>を、シリカゲル薄層クロマトグラフ(展開溶媒はクロロホルム:メタノール:水=65:25:4、発色はヨウ素)で分析した結果、目的物である1-バルミトイ-2-エイコ

サペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンはF<sub>3</sub>中に含まれていた。

F<sub>3</sub>の溶媒を減圧留去し、1-バルミトイ-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン563mgを得た。(收率35.8%)

得られた1-バルミトイ-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンに対して、ファースト・アトム・ポンバード・イオン化マススペクトルの直接導入法で分析した結果、1-バルミトイ-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリンの分子イオン780 ( $[(M+H)^{+}]$ )が明瞭に認められた。また、未反応原料である1-バルミトイ-3-グリセリルホスホリルコリンの分子イオン496 ( $[(M+H)^{+}]$ )は認められなかった。

#### 合成例5

合成例4で得られた1-バルミトイ-2-エイコサペンタエノイル-3-ホスファチジルコリン70mgを80μlのメタノールに溶解し、ホスホリバーゼC(シグマ社製、EC 3.1.4.

3 : クロストリジウム・ペルフリンゲンス (*Clostridium perfringens*) 起源) を 4.0 unit、0.2 M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4) を 0.6 ml、0.05 M 塩化カルシウムを 0.35 ml、エチルエーテルを 0.4 ml 加えた。反応混合物をスクリューキャップ付き 2 ml の試験管中にテフロンスターーラーパーと共に加えて、35℃で 1 時間激しく攪拌しながらインキュベーションした。

反応混合物にエチルエーテル 1.2 ml を加えてから分液漏斗に移し、抽出後、窒素気流下で濃縮した。エチルエーテルで抽出された反応混合物中の未反応のホスファチジルコリンを除去するため、氷冷アセトンを 0.1 ml 加え、ホスファチジルコリンを沈澱させた。エチルエーテル層を硫酸ナトリウムで脱水し、さらに、窒素気流下で脱溶媒して目的の 1-バルミトイール-2-エイコサペンタエノイルグリセロールが 5.9.8 mg 得られた。

得られた 1-バルミトイール-2-エイコサペンタエノイルグリセロールは油状であり、クロロホルム、ヘキサンに可溶で水に不溶であった。

薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 : クロロホルム / メタノール / 水系 (65/25/4, vol/vol/vol)) で反応前後の成分を測定した。

反応後の成分の Rf 値は、反応前の 0.3 から 0.8 に変化し、ドラーゲンドルフ試薬とディットマー・レスター試薬に対する発色が陽性から陰性に変化した。さらに、薄層クロマトグラフィー (展開溶媒 : クロロホルム / アセトン / メタノール系 (90/9/1, vol/vol/vol)) で標準体として未蒸留モノグリセリドと共に反応後の成分を測定した。

反応後の成分は Rf 値が 0.65 で、標準体の Sn-1 位、2 位ジアシルグリセロール (一般名 β-ジアシルグリセロール) の位置に相当していた。本成分は、FAB-MS によって分子量 614 ([M + Na] + 637) が認められた。

本発明の制癌剤は、経口及び非経口投与のいずれも使用可能であり、経口投与する場合は、軟・硬カプセル剤又は錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤として投与され、非経口投与する場合は、水溶性懸濁液、油性製剤などの皮下或いは静脈注射剤、点眼剤等を用いて投与される。

滴剤及び固体状又は懸濁粘稠液状として持続的な粘膜吸収が維持できるように坐薬のような剤型で投与され得る。

本発明の有効成分の製剤化は、界面活性剤、試形剤、滑沢剤、佐剤、及び必要に応じて腸溶性製剤とするために医薬的に許容し得る皮膜形成物質、コーティング助剤等を用いて適宜行うことができ、その具体例を挙げれば、次のとおりである。

本発明の組成物の崩壊、溶出を良好ならしめるために、界面活性剤、例えばアルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等の 1 種又は 2 種以上を添加することができる。

また、試形剤として、例えば蔗糖、乳糖、デンプン、結晶セルロース、マンニット、軟質無水珪酸、アルミニウムマグネシウム、メタ珪酸アルミニウムマグネシウム、合成珪酸アルミニウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸水素カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の 1 種又は 2 種以上を組合せて添加するこ

ができる。

滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等を 1 種又は 2 種以上添加することができ、また防腐剤及び殺虫剤として、食塩、サッカリン、糖、マンニット、オレンジ油カンゾウエキス、クエン酸、ブドウ糖、メントール、ユーカリ油、リシゴ酸等の甘味剤、香料、着色料、保存料等を含有させてもよい。

潤滑剤、潤滑剤の如き佐剤としては、例えばココナツ油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、乳酸カルシウム、ベニバナ油、大豆リン脂質等を含有させることができる。

また被膜形成物質としては、セルロース、糖類等の炭水化物誘導体として酢酸フタル酸セルロース (CPA)、またアクリル酸共重合体、二塩基酸モノエステル類等のポリビニル誘導体としてアクリル酸メチル、メタアクリル酸共重合体、メタアクリル酸メチル、メタアクリル酸共重合体が挙げられる。

また、上記皮膜形成物質をコーティングするに

際し、通常使用されるコーティング助剤、例えば可塑剤の他、コーティング操作時の薬剤相互の付着防止のための各種添加剤を添加することによって皮膜形成剤の性質を改良したり、コーティング操作をより容易ならしめることができる。なお、有効成分を皮膜形成物質を用いてマイクロカプセル化してから賦形剤等を混合した剤型としても良い。

次に代表的な剤型における配合比は下記の通りである。

|        | 特に好ましい範囲   |            |
|--------|------------|------------|
| 有効成分   | 0.1~90 重量% | 0.3~15 重量% |
| 賦形剤    | 10~99.8 "  | 85~99.4 "  |
| 滑沢剤    | 0~50 "     | 0~20 "     |
| 界面活性剤  | 0~50 "     | 0~20 "     |
| 皮膜形成物質 | 0.1~50 "   | 0.3~20 "   |

特に好ましい賦形剤は、乳糖、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウムである。

また、投与量は、対象腫瘍を有効に治療するに

十分な量であり、腫瘍の症状、投与経路、剤型などによって左右されるが、一般に、経口投与の場合、大人では1日当たり、約0.01~200mg/kg体重（小人では0.01~120mg/kg体重）の範囲で、その上限は好ましくは約50mg/kg体重、更に好ましくは約100mg/kg体重程度であり、非経口投与の場合、その上限は約100mg/kg体重程度であり、好ましくは5mg/kg体重、更に好ましくは2mg/kg体重が適当である。

次に、本発明化合物の制癌活性を確認した制癌性試験法について述べる。

フレンド白血病細胞（マウス赤芽球性白血病細胞、B8細胞）に対する試験を行った。HAMのF-12培地（GIBCO製）に15%の牛胎児血清及び60mg/mlのカナマイシンを加えたものに、 $2.5 \times 10^3$  cell/mlとなるようにB8細胞を接種し、これに所定量の被験化合物を加える（最終容量5ml）。

8.0%炭酸ガス中、37℃で7日間培養した後、オルキン（Orkin）のベンジジン染色法により染色

し、染色された細胞数、即ち、赤血球への分化によりヘモグロビンを生成するようになった細胞数を測定し、全細胞に対する比率から分化誘導率を求めた。

以下に、本発明を製剤例及び試験例によって具体的に説明する。

#### 製剤例1（注射・点滴剤）

化合物OE-DG 10mgを含有するよう粉末ぶどう糖5gを加えてバイアルに無菌的に分配し、密封した上、窒素、ヘリウム等の不活性ガスを封入して冷暗所に保存した。使用前にエタノールに溶解し、0.85%生理的食塩水100mlを添加して静脈内注射剤とし、1日、10~100mlを症状に応じて静脈内注射又は点滴で投与する。

PE-DG、OE-PC及びPE-PCについてもOE-DGと同様にして静脈内注射剤とする。

#### 製剤例2（注射・点滴剤）

化合物OE-DG 2mgを用いて、製剤例1と同様の方法により静脈内注射剤とし、1日、10~100mlを症状に応じて静脈内注射又は

点滴で投与する。

PE-DG、OE-PC及びPE-PCについてもOE-DGと同様にして静脈内注射剤とする。

#### 製剤例3（腸溶性カプセル剤）

化合物OE-DG 5g、乳糖2.46g及びヒドロキシプロピルセルロース0.04gを各々とり、よく混合した後、常法に従って粒状に成形し、これをよく乾燥して識別してビン、ヒートシール包装などに適した顆粒剤を製造した。次に、酢酸フタル酸セルロース0.5g及びヒドロキシプロピルセルロースフタレート0.5gを溶解して被覆基材となし、前記顆粒を浮遊流動させつつこの基材を被覆して腸溶性の顆粒剤とした。この組成物をカプセルに充填して腸溶性カプセル剤100個を製造する。

PE-DG、OE-PC及びPE-PCについてもOE-DGと同様にして腸溶性カプセル剤とする。

#### 試験例（制癌活性試験）

化合物 O E - D G 、 P E - D G 、 O E - P C 及  
び P E - P C を用い、前記試験法により、フレン  
ド白血病 (B 8) 細胞の分化誘導活性を調べた。  
その結果を表 1 に示す。

表 1

| 濃度<br>( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) | O E - P C                             |              | P E - P C                             |              | O E - D G                             |              | P E - D G                             |              |
|-----------------------------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------------|--------------|
|                                   | 細胞数<br>( $\times 10^{-4}/\text{ml}$ ) | B P C<br>(%) | 細胞数<br>( $\times 10^{-4}/\text{ml}$ ) | B P C<br>(%) | 細胞数<br>( $\times 10^{-4}/\text{ml}$ ) | B P C<br>(%) | 細胞数<br>( $\times 10^{-4}/\text{ml}$ ) | B P C<br>(%) |
| 320                               | 29.5                                  | 50.0         | 40.0                                  | 42.2         | 39.0                                  | 40.1         | 27.3                                  | 37.3         |
| 160                               | 101.7                                 | 68.7         | 36.0                                  | 39.5         | 38.0                                  | 32.0         | 32.3                                  | 28.6         |
| 80                                | 226.0                                 | 40.5         | 42.7                                  | 60.5         | 142.7                                 | 30.6         | 133.7                                 | 23.8         |
| 40                                | 220.3                                 | 23.9         | 214.7                                 | 22.9         | 199.3                                 | 28.6         | 206.0                                 | 20.4         |
| 20                                | 219.0                                 | 17.4         | 213.0                                 | 14.3         | 212.0                                 | 23.1         | 209.0                                 | 18.8         |
| 10                                | 246.5                                 | 18.2         | 226.3                                 | 7.5          | 208.0                                 | 10.9         | 205.7                                 | 7.5          |
| 5                                 | 262.0                                 | 13.0         | 218.0                                 | 5.4          | 211.0                                 | 6.1          | 216.3                                 | 8.2          |

\* B P C : ベンジン陽性細胞の割合  
(分化誘導率に相当する)